T. M. PRUDDEN,
Lane Medical Library

Über die Erzeugung kernloser Zellen

und über das

Verhalten von in Teilung begriffenen Zellen gegenüber anästhetisch wirkenden Mitteln.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

hohen philosophischen Fakultät

der

Friedrich-Alexanders-Universität Erlangen

vorgelegt von

Alexander Grüttner
aus Gelsenkirchen.

Tag der mündlichen Prüfung: 29. Oktober 1897.

ERLANGEN.
Kgl. bayer. Hofbuchdruckerei von August Vollrath.
1897.

Seinen lieben Eltern

in

dankbarer Verehrung

gewidmet

vom Verfasser.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153716_0166

Einleitung.

Von den verschiedensten Seiten ist in neuester Zeit der Versuch gemacht, die Physiologie des Zellkerns zu erforschen. Botaniker wie Zoologen haben es unternommen, die Funktion des Kernes im allgemeinen zu ergründen, als auch den Einfluss zu untersuchen, den verschiedene äussere Agentien, wie Wärme, Licht, Chemikalien u. s. w. auf den Kern ausüben. Es ist klar, dass man, da die Forschungen über die Physiologie des Kernes noch in den ersten Anfangsstadien stehen, bei den zahlreichen vorliegenden Arbeiten zu verschiedenen, oft sich widersprechenden Ansichten gelangt ist. Das aber haben die Arbeiten gemein, dass abgesehen von einzelnen niederen Organismen sowohl in allen tierischen, wie pflanzlichen Zellen mindestens ein Kern enthalten ist.

Was nun die Funktion des Kernes im allgemeinen anbetrifft, so hat man den Kern mit verschiedenen physiologischen Vorgängen in der Zelle in Zusammenhang gebracht, ich erwähne nur Atmung, Membranbildung, Membranwachstum, Stärkebildung und Assimilation.

In der Festschrift der Naturforscher-Gesellschaft in Halle a. S. 1879 veröffentlicht der Botaniker Schmitz Beobachtungen, welche diese zuletzt angegebenen Beziehungen berühren.

Schmitz fand nämlich, dass das aus den verletzten vielkernigen Zellen der Siphonocladiaceen ausgetretene Protoplasma sich zu einigen grösseren oder kleineren

Kugeln gestaltete, dass aber nur solche Kugeln sich mit einer neuen Membran umgaben, die mindestens einen Zellkern enthalten. Schmitz (S. 306) schliesst daraus: „Es ist dafür, dass ein abgerissener Teil des Protoplasmas selbständig als Zelle sich gestalte und weiterlebe, durchaus erforderlich, dass dieses losgetrennte Protoplasmaklümpchen einen oder mehrere Zellkerne der Mutterzelle enthalte."

Klebs, dem es mittels Plasmolyse gelang, kernlose Protoplaste von verschiedenen Algen u. s. w. zu erhalten, konnte allerdings die wichtige Thatsache feststellen, dass solche kernlose Protoplaste imstande waren, die in ihnen aufgespeicherte Stärke im Dunkeln zu verbrauchen, und dem Licht ausgesetzt, von neuem Stärke zu bilden, dahingegen „gelang es niemals nachzuweisen, dass die kernlosen Zellstücke eine Zellhaut um sich zu bilden fähig sind." (Unters. a. d. Bot. Institut zu Tübingen S. 554).

Ich erwähne schliesslich noch Haberlandt, (Jena 1887) der in seiner Arbeit „Über die Beziehungen zwischen Funktion und Lage des Zellkerns bei den Pflanzen" experimentelle Versuche mit Vaucheria anführt, und der fand, dass die beim Zerschneiden von Vaucheria Fäden in Rohrzuckerlösung ausgestossenen Plasmaballen nur daun am Leben blieben, wenn sie mindestens einen Zellkern besassen. Haberlandt (S. 90) schliesst daraus: „dass die Lebensfähigkeit der ausgeworfenen Plasmateile an das Vorhandensein mindestens eines Zellkerns gebunden ist". In einer im Jahre 1889 erschienenen Arbeit: „Über Einkapselung des Protoplasmas mit Rücksicht auf die Funktion des Zellkerns" kommt Haberlandt zu demselben Schluss. Er berichtet in dieser Arbeit über die Untersuchung verschiedener Haarzellen, welche die Erscheinung der Einkapselung zeigten und findet, dass nur in den kernhaltigen Partieen die Bildung neuer Membranschichten stattfindet. Übereinstimmend

geben also die Arbeiten der Botaniker an, dass kernlose Protoplaste nicht fähig sind, neue Zellhaut zu bilden, dass also die Membranbildung an die Gegenwart des Kerns gebunden ist.

Dahingegen gelang es nur Palla, an Pollenschläuchen, welche er hauptsächlich zu seinen Versuchen verwandte und welche er in Zuckerlösung wachsen liess, an kernlosen Plasmapartieen Membranbildung nachzuweisen.

Mit dem Einfluss, welchen äussere Bedingungen, wie Temperatur, Licht, Schwerkraft, Chemikalien u. s. w. auf den Kern ausüben, haben sich ausser vielen anderen auch Jean Demoor und J. J. Gerassimoff beschäftigt.

Meine Aufgabe soll es nun sein, mit Hilfe der experimentellen Methode zu untersuchen, in wie weit Membranbildung und Membranwachstum vom Dasein des Zellkerns abhängig sind, dann anknüpfend an die Versuche Gerassimoff's den Einfluss verschiedener Chemikalien auf den Kern- und Zellteilungsprozess zu beobachten. Im ersten Teil meiner Arbeit werde ich also über meine Versuche berichten, welche das Verhältnis betreffen, das zwischen dem Zellkern und der Bildung der Zellwand besteht und im zweiten werde ich auf die Versuche Gerassimoff's, sowie im Anschluss daran auf die meinigen zurückkommen.

Es sei mir an dieser Stelle gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Reeß, sowie Herrn Dr. Becker für die liebenswürdige Unterstützung meinen Dank auszusprechen.

Um zu erkennen, ob eine Funktion der lebenden Zelle vom Einfluss des Kernes abhängt, ist eine Teilung des Zellinhalts nötig, so dass also wenigstens ein Teil desselben dem Einfluss des Zellkerns ganz entzogen wird. Dieser so isolierte Teil ist natürlich unter Bedingungen zu erhalten, unter denen er lebensfähig bleiben kann.

Ich habe diese Teilung mit Hilfe der Plasmolyse bewirkt, eine Methode, welche schon Klebs, Palla u. a. zu ihren Versuchen benutzten.

Die folgenden plasmolytischen Versuche wurden alle mit 15 — 22 %iger Rohrzuckerlösung, die gekocht und filtriert wurde, angestellt. Der erkalteten Lösung wurde bei verschiedenen Versuchen behufs Abhaltung von Bakterien und Pilzen 0,01 % doppelt-chromsaures Kali und nach dem Vorgange von Klebs, dem bei der Erkennung der jungen Membran Congorot ausgezeichnete Dienste geleistet hatte, 0,01 % von diesem Farbstoff zugesetzt. Die Stärke der Rohrzuckerlösung wird bei jedem Versuch angegeben werden.

Als geeignete Objekte für plasmolytische Untersuchungen boten sich u. a. die Wurzelhaare von Zea Mays, Hydrocharis Morsus Ranae und Trianea bogotensis dar. Wenigstens habe ich diese mit Erfolg zu meinen Versuchen verwenden können.

Zea Mays. (Wurzelhaare).

Die Versuche mit den Wurzelhaaren von Zea Mays wurden in der Weise angestellt, dass die im Dunkeln zur Keimung gebrachten Maiskörner mit den jungen Wurzeln in ein flaches Gefäss gesetzt wurden, welches

mit 20 %iger, wie oben beschriebener Rohrzuckerlösung gefüllt war. Die Wurzeln wuchsen in diesem Mittel am Lichte weiter fort, es zeigten jedoch die Wurzelhaare ein verschiedenes Verhalten. Während nämlich ein Teil der Haare normal weiter fortwuchs, trat bei den meisten Plasmolyse ein, es zerfiel der Protoplast in mehrere Teile, von denen natürlich nur einer den Zellkern enthielt. Die so entstandenen Teil-Protoplaste gingen nun teilweise nach einigen Tagen zu Grunde, ohne eine Membranbildung zu zeigen, bei manchen jedoch entwickelte sich meist nach Verlauf von drei Tagen eine deutliche Membran.

Ich konnte hier die Beobachtung machen, die auch Palla bei den Wurzelhaaren von Sinapis alba gemacht hat, dass nämlich gerade bei den jüngeren Haaren sich der untere kernlose Teil einkapselte und eine ziemlich dicke, deutliche Membran bildete. Figur 1a. Bei anderen hingegen wieder hatte sich der obere Teil des Protoplasmas eingekapselt. Bei den meisten war der Protoplast in drei oder vier Teile zerfallen, die sich meistens zu Kugeln abgerundet und mit einer Membran umgeben hatten. Figur 1b. Diejenigen Teil-Protoplaste, welche sich nicht eingekapselt hatten, hoben sich scharf von den andern ab.

Was nun den Einfluss des Lichtes auf die Membranbildung anbetrifft, so sei bemerkt, dass der Versuch auch im Dunkeln angestellt wurde und zu gleichen Resultaten führte. Es entwickelten sich sogar reine Dunkel-Kulturen besser, als die, welche dem vollen Licht ausgesetzt wurden.

Hydrocharis Morsus Ranae. (Wurzelhaare.)

Ich setzte Exemplare dieser Pflanze in eine 16 %ige Rohrzuckerlösung. Bei der eintretenden Plasmolyse zog sich das strömende Protoplasma von der Wand zurück und starb vielfach ab. In manchen Haaren jedoch

ballten sich einzelne Protoplasmateile zu Kugeln zusammen und umgaben sich nach vier bis fünf Tagen mit neuer Membran. Dieselbe Erscheinung konnte ich schliesslich auch bei den Wurzelhaaren von

Trianea bogotensis

konstatieren. In einzelnen Haaren dieser Pflanze konnte ich zahlreiche Protoplasmaklümpchen beobachten, welche sich nach Verlauf von vier bis fünf Tagen mit neuer Membran umgeben hatten.

Bei sämtlichen Wurzelhaaren färbte sich die neu gebildete Membran mit konzentrierter Chlorzinkjodlösung violett, auch das Verhalten gegen Jod und Schwefelsäure wies auf die Cellulose-Natur der jungen Membran hin. Es wurden aber zu diesen Reaktionen Objekte genommen, welche mit reiner Rohrzuckerlösung behandelt waren.

Zea Mays. (Wurzelhaubenzellen.)

Ausser bei den Wurzelhaaren von Zea Mays trat auch bei den Wurzelhaubenzellen, die bekanntlich von der Wurzel immer abgestossen und erneuert werden, nach eingetretener Plasmolyse neue Membranbildung in der Zelle auf. Ich brachte zu diesem Versuche jüngere Wurzeln in einen Tropfen einer 20 %igen Rohrzucker-Lösung auf den Objektträger. Die Wurzel wurde mit einem Deckgläschen zugedeckt, und das Präparat am Licht belassen. Ich konnte nach Verlauf von drei Tagen bemerken, dass in einigen, allerdings nur wenigen Zellen das Protoplasma sich in zwei Teile zerlegt und in die Enden der Zelle zurückgezogen hatte. Beide Teile, der eine kernlos, der andere den Kern enthaltend, hatten sich mit einer neuen Zellhaut umgeben. Der Zellkern war in diesen Zellen bisweilen sehr deutlich zu sehen, da er das Congorot reichlich aufgespeichert hatte. Figur 2.

Von Blättern habe ich verschiedene zu meinen Versuchen herangezogen, bin aber nur bei wenigen zu Resultaten gelangt.

Vallisneria spir. (Blätter).

Schnitte aus dem Parenchym von jüngeren Blättern wurden auf den Objektträger in einige Tropfen einer 15 %igen Rohrzuckerlösung gebracht. In den allermeisten Zellen zog sich der Protoplast einheitlich von der Zellwand in das Innere der Zelle zurück; in einigen wenigen Zellen aber spaltete er sich darauf in zwei Teile, zwischen denen das Protoplasma zu einem dünnen Faden ausgezogen war. Aber auch dieser Faden zerriss allmählich, sodass jetzt der Protoplast sich in zwei getrennten Teilen im Innern der Zelle befand, von denen der eine den Zellkern enthielt. Am folgenden Tage schon hob sich von beiden Teilen die junge neu gebildete Membran deutlich ab und hatte das Congorot aufgespeichert. Figur 3. Auch in diesem Falle konnte die Cellulosenatur der jungen Membran nachgewiesen werden.

Ich habe dann gleiche Versuche noch angestellt mit Längsschnitten aus den Blättern von Agave americana, Funkia ovata, Imatophyllum miniatum, Tradescantia discolor, sowie mit den Blättern von Elodea canad; bin aber zu brauchbaren Resultaten nur bei den letztgenannten gelangt und kann hier nur die Versuche Pallas bestätigen, welcher dieser mit diesen Blättern angestellt hat.

Spirogyra und Zygnema.

Von den Algen und speziell von den Conjugaten ist es Zygnema, die stets nur einen, und Spirogyra, die in den allermeisten Fällen nur einen Zellkern besitzt. Ich habe verschiedene Arten zu meinen Versuchen

herangezogen und fand eine 18 %ige Rohrzucker-Lösung zu meinen Versuchen am geeignetsten.

Es trat also in diesen Zucker-Kulturen Plasmolyse ein, und die verschiedenen Spirogyren-Arten verhielten sich hier sehr verschieden.

Während ich bei Spirogyra nitida fast niemals beobachtet habe, dass der Protoplast in mehrere Teile zerfiel, geschah dieses bei Spir. longata und der zarten Spir. tenuissima fast stets, ja bei letzterer war es nicht selten, dass er in drei oder vier Teile zerfiel.

Ebenso verschieden, wie das Verhalten im allgemeinen, war auch die Gestalt der Teilprotoplaste. Selten zerfiel z. B. bei Spir. long. der Protoplast in zwei ganz gleiche Teile. In den meisten Fällen war der eine grösser, oft doppelt so gross, wie der andere, beide langgestreckt. In vielen Fällen auch hatte sich der eine zur vollständigen Kugel abgerundet. In den kernhaltigen Teilen befand sich der Kern nicht immer genau in der Mitte, sondern war nach der einen oder andern Seite hin verschoben und behielt auch diese Lage bei. Er war oft infolge reichlicher Aufspeicherung von Congorot deutlich zu sehen. Figur 5.

Bei den zarten Spirogyren-Arten hatten sich die Teil-Protoplaste meistens zu Kugeln abgerundet.

Bei Zygnema stellinum, wo ich überhaupt die Teilung des Protoplastes in zwei Teile, im Gegensatz zu Spirogyra nur selten beobachtet habe, geschah dieses immer in Kugelform. Figur 4.

Die Zeit, welche zur Bildung neuer Zellhaut um die Teil-Protoplaste notwendig ist, betrug bei Zygnema meistens drei bis vier, bei Spirogyra meistens vier bis fünf Tage, doch geschah dieses um kernlose und kernhaltige Stücke nicht immer gleichzeitig, sondern in einzelnen Fällen war die Bildung der neuen Membran um den einen Teil früher zu beobachten, als um den andern. In einigen Ausnahmefällen starben auch kern-

haltende ohne Zellhautbildung ab, während kernfreie solche gebildet hatten.

Die Form der Zellhaut war meistens die einer dünnen Membran, in einigen Fällen war aber eine deutliche Schichtung zu beobachten.

Ich konnte in einzelnen Fällen bis zu fünf Schichten beobachten. Diese Schichten gingen aber nicht immer rings um den ganzen Protoplast, sondern an einzelnen Stellen befand sich eine grössere Anzahl von Schichten, welche dann in den schon vorhandenen allmählich ausliefen. Figur 6.

Der Nachweis, dass die junge gebildete Membran auch wirklich echte Zellwandsubstanz darstellte, konnte abgesehen von der Aufspeicherung des Congorots, auch hier mittels Chlorzinkjod, sowie durch das Verhalten gegen Jod und Schwefelsäure geführt werden. Doch wurden zu diesem Zweck Kulturen angelegt, denen weder Farbstoff und Kaliumbichronat zugesetzt war.

Was nun die Lebensdauer der kernlosen Protoplaste, die sich mit neuer Zellhaut umgeben hatten, anbetrifft, so leiden manche Stücke sehr bei der Plasmolyse und sterben nach kurzer Zeit ab. Ein Unterschied in der Lebensdauer zeigt sich auch in den verschiedenen Zellen eines und desselben Fadens, ja sogar an den einzelnen Plasmastücken einer und derselben Zelle. Unter günstigen Kulturbedingungen aber, — die Kulturen befanden sich in einem Raum, dessen Temperatur 15° C. nicht überschritt —, gelang es mir z. B. kernlose Protoplaste von Zygnema, die sich mit neuer Zellhaut umgeben hatten, bis zu sechs Wochen am Leben zu erhalten. Die Spirogyren-Kulturen gingen meistens schon nach fünf bis sechs Wochen zu Grunde. Die lebenden Teil-Protoplaste unterschieden sich schon deutlich durch ihr Aussehen von den abgestorbenen, sie sind aber auch fähig, im Dunkeln allmählich ihre Stärke zu verbrauchen, und dem Licht ausgesetzt, neue hervorzubringen.

Ein Wachstum habe ich bei Zygnema nicht, bei Spirogyra nur schwach beobachten können. Die Teil-Protoplaste gehen bald nach Bildung der neuen Zellhaut in einen Ruhezustand über.

Alle bis jetzt geschilderten Beobachtungen sind mit Zucker-Kulturen angestellt, die unter Einfluss des Lichtes standen.

Wie ich bei meinen ersten Versuchen, welche ich mit Wurzelhaaren u. s. w. angestellt habe, bemerkte, war hier die Zellhautbildung unabhängig vom Licht, sie ging auch im Dunkeln vor sich. Auch machten sich, wenn die Pflanzen, wie z. B. die Wurzelhaare von Zea Mays, sowie die Blätter von Elodea canadensis längere Zeit unter Abschluss des Lichtes gehalten wurden, keine nachteiligen Veränderungen der Teil-Protoplaste bemerkbar. Ja, es entwickelten sich in einzelnen Fällen meine Dunkel-Kulturen besser, als die, welche dem vollen Licht ausgesetzt waren.

Ein anderes Verhalten hiervon zeigen die vorher besprochenen Algen. Wenn auch Zellhautbildung um kernlose Protoplaste in vielen Fällen stattfand, so zeigten doch die Dunkel-Kulturen schon nach wenigen Tagen ein gänzlich verschiedenes Verhalten gegenüber den Licht-Kulturen. Die Teil-Protoplaste, auch die, welche sich mit neuer Zellhaut umgeben haben, nehmen allmählich andere Gestalt an, sie weichen von ihrer kugeligen oder cylindrischen Gestalt ab, es machen sich dann krankhafte Veränderungen bemerkbar, und schliesslich tritt der Tod ein.

Ich habe dann noch Versuche angestellt, bei denen die Zucker-Kulturen unter sonst gleichen Bedingungen im blauen und gelben Licht gehalten wurden. Der Unterschied gegenüber den Dunkel-Kulturen war kein bemerkenswerter. Nur liess sich das feststellen, dass die krankhaften Veränderungen in den Dunkel-Kulturen und in denen, welche im gelben Licht gehalten wurden,

sich etwas früher bemerkbar machten, als im blauen Licht. Zellhautbildung um kernlose Protoplaste fand auch im blauen und gelben Licht, wenn auch nicht in dem Masse, wie im vollen Licht, statt.

Schliesslich habe ich noch mit Spirogyren, welche ich vorher entstärkt hatte, Versuche angestellt und bin hier zu Resultaten gekommen, die ich erwartet: entstärkte Spirogyren waren nicht fähig, wenn sie in der Zucker-Lösung weiter im Dunkeln kultiviert wurden, um ihre Teil-Protoplaste neue Zellhaut zu bilden. Man muss bei diesen Versuchen aber darauf achten, dass einzelne Spirogyren-Zellen, selbst wenn sie längere Zeit im Dunkeln gestanden, immer noch Stärke enthalten, während andere schon vollständig entstärkt sind.

Wie ich schon vorhin bemerkte, war bei meinen letzten Versuchen der Zellkern infolge Aufspeicherung des Congorots fast immer deutlich zu sehen, während er in andern Fällen, z. B. bei Elodea und den Wurzelhaaren mit Borax-Carmin zur Anschauung gebracht werden konnte.

Ich muss ausdrücklich bemerken, dass bei allen meinen Versuchen eine plasmatische Verbindung zwischen den einzelnen Protoplasten in keiner Weise bestand, so dass ein Einfluss des Kernes durch etwaige Plasmafäden nicht übermittelt werden konnte.

Ich bin auch nicht geneigt, eine nachwirkende Zellkernthätigkeit anzunehmen, wie sollte man sich diese Nachwirkung nach Verlauf einer verhältnismässig so langen Zeit bis zum Auftreten der Zellhaut erklären; sie wäre doch nur dann möglich, wenn die Trennung der Teile unmittelbar vor Beginn der Zellhautbildung stattfände.

Nach dem Gesagten kann ich also jetzt die Summe meiner Beobachtungen zusammenfassen und als Resultat meines gewonnenen Einblicks mich dahin aussprechen:

dass kernlose Protoplaste verschiedenartigster Pflanzen fähig sind, unabhängig vom Dasein des Zellkerns neue Zellhaut zu bilden.

Dies wurde beobachtet bei den Wurzelhaaren von Zea Mays, Hydrocharis Morsus Ranae, Trianea bogotensis; ferner bei den Blattzellen von Vallisneria spiralis und Elodea canad., und schliesslich bei Zygnema stell. und verschiedenen Spirogyra-Arten.

Bei den letztgenannten, also den niederen Pflanzen, ist die Erscheinung häufiger zu beobachten, als bei den erstgenannten höheren Pflanzen.

Die neue Zellhaut erscheint meistens als eine dünne, scharf umgrenzte Haut, bisweilen ist sie aber auch deutlich geschichtet.

Die kernlosen Zellstücke von Zygnema und Spirogyra halten sich in einer Rohrzucker-Lösung unter günstigen Bedingungen bis zu sechs Wochen am Leben. Ihr Wachstum ist äusserst gering.

Zellhautbildung um kernlose Protoplaste findet auch im Dunkeln statt, bei Spirogyra und Zygnema auch im blauen und gelben Licht. Dahingegen ist die Lebensfähigkeit solcher kernlosen Protoplaste durchaus abhängig vom Dasein des Lichts.

Entstärkte Spirogyren sind nicht fähig, nach eingetretener Plasmolyse um die kernlosen Protoplaste neue Zellhaut zu bilden.

Dem Einfluss, welchen äussere Bedingungen auf den Kern ausüben, haben, wie ich schon in meiner Einleitung erwähnte, u. a. Jean Demoor und J. J. Gerassimoff in neuester Zeit ihre Aufmerksamkeit zugewandt. Speziell letzterer hat sich sowohl mit dem Einfluss der Temperatur, als auch mit dem Einfluss, welchen verschiedene anästhesierend wirkende Chemi-

kalien auf den Kern- und Zell-Teilungsprozess ausüben, beschäftigt.

Im Anschluss an eine im September 1896 erschienene Arbeit von J. J. Gerassimoff: „Über ein Verfahren, kernlose Zellen zu erhalten. (Zur Physiologie der Zelle"), habe ich nun gleiche und ähnliche Versuche, wie Verfasser, angestellt. Ich muss, ehe ich zur Mitteilung meiner Versuche schreite, eine kurze Inhaltsangabe der oben erwähnten Arbeit geben:

Gerassimoff lässt auf Spirogyra-Zellen, welche sich in Teilung befinden, Chloroform, Äther oder Chloralhydrat unter gewissen Bedingungen wirken und will dann nachher zwei Schwesterzellen erhalten, von denen die eine ganz ohne Kern ist, während die andere einen Überschuss von Kernsubstanz besitzt, d. h. entweder einen grossen Kern, oder einen zusammengesetzten, oder zwei Kerne von gewöhnlicher Grösse.

Bisweilen will es ihm auch nur gelungen sein, statt einer kernlosen Zelle, eine kernlose „Kammer" zu erhalten, wenn nämlich die neu entstehende Querscheidewand sich nicht vollständig ausbildet, und im äussersten Falle habe er nur die Spuren einer solchen Wand in der Form von einer Reihe kleiner Auswüchse an der Aussenwand beobachtet. Gerassimoff will eine grössere Anzahl solcher kernlosen Zellen und kernlosen „Kammern" beobachtet haben. Der Unterschied zwischen den so erhaltenen Zellen und Kammern und normalen Zellen bestehe u. a. in der Färbung der Chlorophyllbänder. Sie sei in den kernlosen Zellen schmutziger, in den kernlosen Kammern lebhafter, intensiver. In beiden rücken die Chlorophyllbänder mehr oder weniger nach der Mitte der Zelle hin, — in den Zellen nicht immer, in den Kammern gewöhnlich. Die Existenz kernloser Zellen sei eine äusserst kurze.

Das gleiche Verfahren habe sich auch bei Zygnema, welche ja Spirogyra nahe steht, als anwendbar erwiesen.

Sowohl in den Wintermonaten, als aber hauptsächlich im Sommer dieses Jahres habe ich nun gleiche und ähnliche Versuche, wie Gerassimoff angestellt, vorzüglich mit der Absicht, um zu ähnlichen Resultaten zu gelangen, dann aber auch, um die Einwirkung anästhesierend wirkender Mittel auf den Pflanzenorganismus zu beobachten, bin aber, wie ich gleich bemerken will, nicht zu den Resultaten, wie Gerassimoff gelangt, trotzdem die Versuche unter denselben Bedingungen, mit gleichem und ähnlichem Material angestellt wurden. Das Material waren die verschiedensten Spirogyra-Arten, ausserdem Zygnema stellinum; sämtliche Algen konnten zu jedem Versuch frisch beschafft werden. Algen bieten ja bei zellphysiologischen Versuchen ausgezeichnete Objekte dar, und man kehrt bei derartigen Untersuchungen immer wieder zu ihnen zurück. Ich konnte ja auch nur mit solchen Pflanzen arbeiten, bei denen der Kern- und Zellteilungs-Prozess nicht getrennt, sondern gleichzeitig auftreten, was bei den Algen der Fall ist.

Wichtig vor allem war es nun für meine Untersuchungen, zu wissen, zu welcher Tageszeit die Teilung bei den verschiedenen Conjugaten-Arten vorzugsweise vor sich geht. Nach Strasburger soll die Kern- und Zell-Teilung bei diesen Pflanzen nachts zwischen 10 und 12 Uhr beginnen und gegen 2 Uhr beendet sein. Wenn dieses auch für viele Conjugaten zutreffend sein mag, so lässt sich diese Beobachtung durchaus nicht für alle Arten verallgemeinern. Ich habe um die angegebene Zeit, also nachts zwischen zehn und zwei Uhr zu verschiedenen Malen Spirogyren, sowie Zygnema stellinum beobachtet, ohne auch nur die Spur einer Kern- und Zell-Teilung zu sehen, dahingegen habe ich solche bei denselben Arten in den Morgenstunden beobachten können. Schon Pringsheim bemerkt ausdrücklich in seiner Arbeit (Berlin 1854): „Untersuchungen über den Bau und die

Bildung der Pflanzenzelle", in einem Kapitel: „Über die Zeit, wann die Teilung der Zellen bei den Conferven stattfindet, und am besten beobachtet werden kann." (Zu Conferven zählt er auch Spirogyra und Zygnema): (S. 78.) „Es lässt sich keine bestimmte Tageszeit angeben, in welcher die Teilung vorzugsweise vor sich geht. Ich habe die Teilung oft gleich lebhaft in den Morgen-, Nachmittags- und Abendstunden beobachtet."

Festgestellt ist aber das, dass man die Kern- und Zell-Teilung sistieren kann, wenn man die Algen in eine Temperatur bringt, die zwischen 0° und 5° C. liegt. Die Teilung wird dann aufgehalten und tritt dann bei Erwärmung später unabhängig von der Tageszeit sofort ein. Ich habe infolgedessen auch meine sämtlichen Versuche in der Weise angestellt, dass ich mein frisches Material circa 24 Stunden vor dem Versuche in einen Raum brachte, dessen Temperatur konstant 3,5 — 4° C. betrug. Die Temperatur des Wassers selbst, in welchem sich die Algen befanden, betrug dann immer 4,1 bis 4,3° C.

Ich brachte zu diesem Zweck in einen sehr grossen Glascylinder Eisstücke und setzte in diesen Glascylinder ein flaches Gefäss, in dem sich das Material befand. Die Zahl der Chemikalien, mit denen ich arbeiten konnte, war natürlich nur eine beschränkte, da es sich ja nur um solche handeln konnte, welche die Kernteilung hemmten, d. h. die anästhesierend wirkten.

Gerassimoff giebt nicht an, in welchem Stadium sich die Kern- bez. Zellteilung bei der Einwirkung der Mittel befand. Ich habe sie bei allen Stadien wirken lassen, hauptsächlich aber dann, wenn sie sich in den Zwischenstadien befand.

Chloralhydrat.

Fäden von Spirogyra long. und Spir. nitida mit sich teilenden Zellen wurden um morgens 9 Uhr in je 100 gr Chloralhydratlösung von 0,25 bis 2% gebracht.

Die Fäden wurden in diesen Lösungen 15 bis 20 Minuten gelassen, dann in frisches Wasser gesetzt, welches ohne chemische Beimischung war.

Um 11 Uhr war die Einwirkung des Chloralhydrats deutlich zu beobachten.

In Lösungen von 0,25 und 0,5 % war das Aussehen der Zellen frisch und es waren keine besonderen Veränderungen zu bemerken.

Die Zellteilung war hier ungestört zu Ende gegangen. Bei einer 0,75 %igen Lösung jedoch hatten die Kerne einzelner Zellen bedeutend an Umfang zugenommen. Es waren dies Kerne, welche in Teilung begriffen, infolge Einwirkung des Chloralhydrats in ihrer weiteren Entwicklung gehemmt worden waren. Diese Zellen weisen also, um den Ausdruck Gerassimoff's zu gebrauchen, einen Überschuss von Kernsubstanz auf, waren also eigentlich zweikernige Zellen, und zwar war es eine ganze Reihe von Zellen, welche diese Eigenschaft zeigten. Eine neue Querscheidewand zur Bildung einer Schwesterzelle bildete sich jedoch in diesen Zellen nicht, auch konnte ich nicht die „Spuren einer solchen Wand in Form von einer Reihe kleiner Auswüchse" beobachten, wie Gerassimoff.

Bei einer 1 %igen Lösung waren schon in verschiedenen Zellen die Chlorophyllbänder stark kontrahiert, bei einer 1,5 bis 2 %igen Lösung viele Zellen tot.

Die Beobachtung der Zellen nachmittags um 3 Uhr ergab dieselben Resultate, nur waren jetzt bei den stärkeren Lösungen schon sehr viele Zellen abgestorben.

Ich habe noch eine Reihe Parallelversuche angestellt, bei denen teilweise die Dauer der Einwirkung des Chloralhydrats eine längere, bis zu zwei Stunden war. Die Resultate waren dieselben, nur waren bei längerer Einwirkung eine grössere Anzahl von Zellen bei den stärkeren Lösungen abgestorben.

Die besten Erfolge hatte ich mit 0,75 %igen Lösungen bei $1^1/_2$stündiger Einwirkung.

Chloroform.

Chloroform wurde als Chloroform-Wasser angewandt, dargestellt durch Schütteln von Chloroform mit Wasser und Abgiessen der Lösung, dann verdünnen mit der gleichen Menge Wasser.

Ich wandte Verdünnungen an von 1,5 — 8 % und liess solche wirken auf sich teilende Zellen von Zygnema stell. Die Fäden wurden morgens um 9 Uhr in die Lösungen gesetzt und bei verschiedenen Versuchen eine halbe bis zu zwei Stunden in diesem Mittel gelassen, dann in frisches Wasser übertragen.

Es ergab sich, dass die Zellen eine 5 %ige Lösung bei einer Einwirkung von 30 Minuten ohne Schaden zu nehmen, ertragen konnten.

Dahingegen wirkten 6 bis 8 %ige Lösungen je nach der Stärke und Dauer der Einwirkung schon tötlich auf die Zellen ein.

Die Einwirkung des Chloroforms ist eine doppelte, es wirkt sowohl auf den sich teilenden Kern, als auch auf das Protoplasma ein. Es erscheinen im Protoplasma oft schon nach wenigen Minuten körnige Ausscheidungen, dann wird es unbeweglich; es ist anästhesiert.

Dasselbe ist beim sich teilenden Kern der Fall. Er nimmt bedeutend an Umfang zu, seine Form wird unregelmässig und schliesslich kommt er in ein Ruhestadium. Der Unterschied der Einwirkung zwischen Protoplasma und Kern ist aber der, dass das erstere viel früher anästhesiert wird, als der Kern, und dass das Protoplasma bisweilen schon abgestorben ist, während der Kern sich nur in einem Ruhestadium befindet.

Infolgedessen habe ich auch das Auftreten einer neuen Scheidewand in einer solchen Zelle nicht beobachten können: denn, wurden die Zellen der Einwirkung des

Chloroforms früh genug entzogen, so erholten sich sowohl das Protoplasma als auch der Kern, es trat später eine normale Teilung ein; war aber die Einwirkung des Chloroforms auf das Protoplasma eine zu intensive gewesen, so war dieses zur Bildung einer neuen Querscheidewand nicht mehr fähig.

Ich habe eine grosse Reihe gleicher Versuche mit Chloroform auf verschiedene Spirogyra-Arten angestellt. Die Wirkung auf Spirogyra war im allgemeinen eine nicht so heftige, so bewirkte z. B. bei manchen Versuchen erst eine 6 %ige Lösung die Anästhesierung der Lebensthätigkeit der Zelle, was ja bei Zygnema schon immer bei einer 5 %igen Lösung eintrat.

Im übrigen waren aber die Erscheinungen infolge der Einwirkung von Chloroform auf Spirogyra dieselben, wie bei Zygnema auch.

Äther.

Auch mit diesem Körper habe ich eine Anzahl Parallelversuche in der Weise angestellt, dass manche Zellen von Spirogyra nur 15 Minuten, manche 30 und 45 Minuten, manche bis zu vier Stunden im Mittel gelassen wurden. Die Stärke der Lösungen betrug 0,5 bis 4 %. Es ergab sich, dass die Grenze, bis zu welcher man gehen durfte, ohne das Leben der Zelle direkt zu schädigen, eine 1,5 %ige Lösung war. Die Wirkung des Äthers war im allgemeinen nicht so stark, wie diejenige des Chloroforms und des Chloralhydrats.

Auch hier trat erst eine Erregung des Protoplasmas, schliesslich Anästhesierung desselben sowie des Kernes ein. Doch konnte ich z. B. bei einer 1 %igen Lösung erst nach 20 Minuten eine deutliche Einwirkung beobachten. In frisches Wasser gebracht trat dann später normale Teilung ein.

Alcohol.

Interessant war das Verhalten von Zygnema Zellen diesem Körper gegenüber. Während nämlich Lösungen bis zu 4,5 % bei einer Einwirkung bis zu $2^1/_2$ Stunden nicht auf die Zellen einwirkten, konnte ich bei einer ausnahmsweise langen Einwirkung, nämlich von beinahe 2 mal 24 Stunden die Beobachtung machen, dass eine weitere Kern- und Zellteilung nicht eingetreten war, dass aber manche Zellen ausserordentlich in die Länge gewachsen waren: sie hatten in manchen Fällen das Doppelte ihrer ursprünglichen Länge erreicht. Die Stärke der Lösung betrug hier 2,5 %. Es war hier offenbar eine Teilung verhindert worden, während das Wachstum der Zelle nicht behindert war. Die Erscheinung zeigte sich immer gleich bei einer ganzen Reihe von Zellen. Die gleiche Erscheinung habe ich bei Spirogyra nicht beobachten können.

Cocain muriat.

Deutlich anästhesierend auf den in Teilung begriffenen Kern von Spirogyra wirkt Cocain muriat. und zwar schon bei einer 0,004 %igen Lösung bei einer Einwirkung von 20 Minuten. Bringt man die Zellen nach dieser Einwirkungsdauer wieder in frisches Wasser, so erhält man nach einigen Stunden Zellen, die einen Überschuss von Kernsubstanz aufweisen, Zellen mit einem grossen Kern.

Cocain wirkt ferner schon bei einer 0,001 %igen Lösung auf das Protoplasma, es erscheinen körnige Ausscheidungen, die natürlich bei stärkeren Lösungen zunehmen. Eine 0,006 %ige Lösung wirkt schon bei einer Einwirkung von 30 Minuten tötend auf die meisten Zellen ein.

Eine Membranbildung findet auch hier nicht statt.

Eine Reihe von Versuchen habe ich dann noch mit Morphium hydrochl., Codein phos., Ammoniak und

Chinin sulf. angestellt, welche keine wesentlich anderen Resultate ergaben. Intensiv auf das Protoplasma wirkten Chinin und Ammoniak, welche schon in Lösungen von 0,001 : 100 nach kurzer Zeit körnige Ausscheidungen hervorrufen. Entzieht man dann früh genug die Zellen diesen Körpern, so kehrt das Leben wieder zurück.

Codein und Morphium wirkten bei einer Stärke von 0,1 % hemmend auf die Kernteilung, liessen aber eine neue Zellwandbildung nicht zu.

Ich bin also, trotzdem ich unter gleichen Bedingungen und mit gleichem Material, wie Gerassimoff gearbeitet habe, nicht zu den Resultaten, wie sie Gerassimoff erhalten haben will, gelangt.

Ich würde also die Frage, ob es möglich ist, auf diese Weise zur Bildung kernloser Zellen zu gelangen, etwa in der Weise beantworten, dass die Methode in den meisten Fällen jedenfalls nicht zur Bildung kernloser Zellen führt. Es können jedoch vielleicht Ausnahmefälle stattfinden.

Gerassimoff beruft sich im Anfang seiner Arbeit auf die Versuche Clande Bernard's, O. Hertwigs, sowie schliesslich auch auf die Jean Demoors. Trotzdem letzterer auch gerade mit anästhesierend wirkenden Mitteln auf sich teilende Zellen in den Staubfädenhaaren von Tradescantia Virginica sowie die Lencocyten des Frosches gearbeitet hat, ist er niemals zur Bildung kernloser Zellen gelangt.

Die Resultate des zweiten Teils meiner Arbeit würden also, kurz zusammengefasst, folgende sein:

Zwischen dem Leben des Protoplasmas und dem des Kerns besteht eine grosse Unabhängigkeit.

Anästhesierend wirkende, chemische Substanzen rufen in beiden zuerst ein Erregungs-, dann ein Ruhe-Stadium hervor. Der Unterschied zwischen der Wirkung auf das Protoplasma und derjenigen auf den Kern ist

aber der, dass das Protoplasma viel früher anästhesiert wird, als der Kern.

Die Neubildung einer Zellmembran findet in so anästhesierten Zellen nicht statt, auch wenn sie früh genug dem Einfluss des Körpers entzogen werden. Es tritt dann später entweder normale Teilung ein, oder man erhält eine Zelle mit einem Überschuss von Kernsubstanz, einem grossen Kern. Diese letzte Erscheinung tritt bei Spirogyra und Zygnema immer gleich bei einer ganzen Reihe von Zellen ein.

Figurenerklärung.

Fig. 1. Zea Mays. (Wurzelhaare.)

a) Der über der Basis befindliche, kernlose Teil hat sich eingekapselt. Ein Teil (y) hat sich nur einseitig eingekapselt.
b) Verschiedene Teile (kernlose) haben sich mit neuer Membran umgeben.

Fig. 2. Zea Mays. (Wurzelhaubenzelle).

Wurzelhaubenzelle plasmolysiert. Auch der kernlose Teil hat sich mit neuer Membran umgeben. Kern durch Congorot gefärbt.

Fig. 3. Vallisneria spiralis.

Längsschnitt aus dem Parenchym eines Blattes. Sowohl kernhaltiger, als auch kernloser Teil haben sich mit neuer Membran umgeben.

Fig. 4. Zygnema stell.

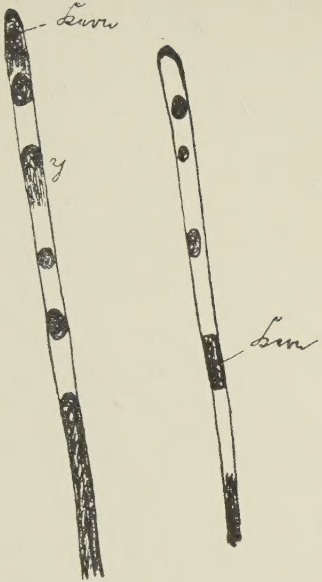
Fig. 5. Spirogyra long.

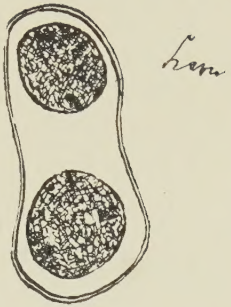
In beiden Zellen ist der Protoplast infolge Plasmolyse in einen kernlosen und kernhaltigen Teil zerfallen. Beide haben sich eingekapselt. Bei Fig. 5 ist der Kern deutlich zu sehen.

Fig. 6. Spirogyra tenuiss.

Spirog. in 15%iger reiner Rohrzuckerlösung.
Es ist hier eine deutliche Schichtung der jungen Membran zu beobachten.

a b





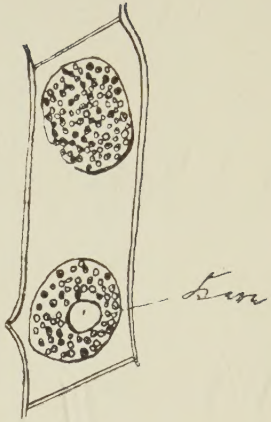
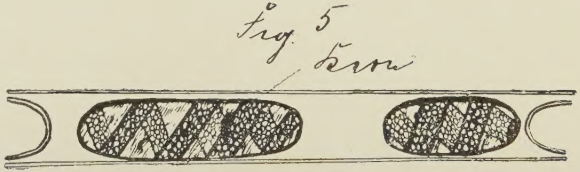


Fig 6

Fig. 4

Fig. 5



Lebenslauf.

Josef Augustin Alexander Grüttner, geboren am 3. November 1869 zu Gelsenkirchen, kath. Konfession, Sohn des prakt. Arztes Dr. med. August Grüttner und seiner Frau Auguste Grüttner, geb. Eicke, besuchte das Realgymnasium zu Schalke und widmete sich dann dem Apothekerberuf. Nach vollendeter Lehrzeit bei Herrn Apotheker Hümmler in Marten und dreijähriger Konditionszeit bezog er Ostern 1894 die Universität München, darauf Herbst 1895 die Universität Erlangen und machte daselbst im Winter-Semester 1895/96 sein pharmazeutisches Staats-Examen. Die drei folgenden Semester studierte er dann noch in Erlangen Naturwissenschaften.